Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Die Assimilation des Lecithins durch die Pflanze

von

Dr. **Julius Stoklasa,**
diplom. Agr. Docent an der k. k. technischen Hochschule in Prag.

(Mit 1 Tafel.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 20. Juni 1895.)

Durch die Erkenntniss einer richtigen Methode für die Lecithin-Bestimmung in den Pflanzenbestandtheilen, um welche sich Hoppe-Seyler, in neuester Zeit E. Schulze und seine Schüler besondere Verdienste erworben, wurde auch das Studium der Verbreitung des Lecithins und seiner physiologischen Bedeutung für die vitalen Processe der Pflanze ermöglicht.

Gelegentlich des Congresses der Naturforscher und Ärzte zu Wien 1894 wies ich auf die Functionen des Lecithins im Assimilations- und Dissimilations-Processe hin und betonte seine hervorragende Rolle bei der Bildung des Chlorophylls.

Hier wollen wir die wichtige Frage erörtern, ob das Lecithin durch die Pflanzenwurzel assimilirt werden kann.

Lecithin ist im Boden vorhanden und seine Menge steigt mit der Zunahme der organischen Substanzen.[1] Die Frage der Assimilation ist daher in doppelter Hinsicht von Bedeutung.

Die saprophyte Ernährung der Phanerogamen auf autophagem Wege wurde bewiesen bei zahlreichen Stickstoffsubstanzen, als wie beim Asparagin (Baessler und Bertel), bei Leucin und Tyrosin (Knopp und Wolf), bei Guanin Johnsen u. m. a.; unsere Versuche aber betreffen die saprophyte Ernährung der Phosphorsäure im Lecithin.

---

[1] Näheres vom Verfasser in Berliner Berichte, 1895.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Das Lecithin, in seiner chemischen Constitution, wie bekannt, von Diakonov[1] und Strecker[2] studirt, repräsentirt die Formel:

$$C_3H_5 \left\{ \begin{array}{l} (C_{18}H_{35}O_2)_2 \\ O-PO \left\{ \begin{array}{l} OH \\ O-N(CH_3)_3-C_2H_4OH \end{array} \right. \end{array} \right.$$

$$C_3H_5 \left\{ \begin{array}{l} (C_{18}H_{35}O_2)_2 \\ O-PO \left\{ \begin{array}{l} OH \\ O-C_2H_4-N(CH_3)_3OH. \end{array} \right. \end{array} \right.$$

Lecithin gewann ich aus Haferkeimlingen nach dem Modus E. Schulze's und A. Lickiernik's.[3]

Die Haferkeimlinge wurden — fein zerrieben und vollkommen trocken — jedesmal durch wasserfreien Äther bei 45° C. und schliesslich durch absoluten Alkohol bei 50 bis 60° C. extrahirt. Die Neutralisirung der organischen Säuren in den Extracten bewirkte $CaCO_3$. Die klaren Extracte wurden bei 40° C. verdampft und der Verdampfungsrückstand mittelst Äther digerirt. Im Äther sind nebst Lecithin auch Cholesterin, Glyceride u. a. enthalten. Um eine reine Lecithinlösung zu erhalten, schüttelte man die ätherische Lösung mit Wasser im Schüttelapparate. Es tritt eine starke Emulsion ein, zu welcher noch Krystalle von Natriumchlorid hinzukommen, und die Flasche wird neuerdings in den Schüttelapparat gegeben. Die Trennung der Ätherschichte vom Wasser geschieht dann sehr leicht.

Die reine Ätherlösung wurde abgedampft und mit absolutem Alkohol behandelt.

Nach starker Abkühlung wurde das Lecithin ausgeschieden, dasselbe von der Mutterlauge getrennt, mittelst Alkohol gereinigt und über der Schwefelsäure zum constanten Gewichte belassen.

Die Analyse wies nachstehende Constitution auf: Die Bestimmung des Phosphors und Cholins geschah nach den bekannten Methoden von Hoppe-Seyler.

---

[1] Ann. Chem. Pharm., 1868.

[2] Hoppe-Seyler, Med.-Chem. Untersuchungen, H. 2 und 3.

[3] Zeitschrift für physiologische Chemie, 1891.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

An Phosphor fand man in den verschiedenen Producten (nachdem dieselben bei 100° C. getrocknet worden waren):

Product I = 4·18%
» II = 4·22% } Durchschnitt = 4·23%.
» III = 4·29%

Der Theorie nach erfordert Lecithin, je nachdem es das Radical der Ölsäure, Palmitinsäure oder Stearinsäure einschliesst, folgendes Phosphor-Quantum:

Dipalmityl-Lecithin . . . . 4·12%
Dioleyl-Lecithin . . . . 3·86%
Distearyl-Lecithin . . . . 3·84%

Wir sehen daher, dass die von uns gefundenen Zahlen höher sind. Es ist wahrscheinlich, dass in derselben Weise, wie die Nukleine in den Pflanzen eine Gruppe mit verschiedenem Nukleinsäure-Gehalt darstellen, auch in den diversen Lecithinen der Gehalt an Glycerinphosphorsäure zu- oder abnimmt.

Zur Erkenntniss der Constitution des Lecithins zersetzen wir circa 7—10 *g* der Substanz in einer gleichen Menge von aufgelöstem $Ba(OH)_2$ im siedenden Zustande und trennen die erhaltenen Producte nach der bekannten Methode Hoppe-Seyler. Die durch die Zersetzung entstandenen Baryumsalze der Fettsäuren werden filtrirt und in dem stark concentrirten Filtrate laugen wir im warmen Zustande mittelst Alkohol Cholin aus; die Glycerinphosphorsäure — als Baryumsalz bleibt zurück.

Die auf dem Filter zurückgebliebenen Baryumsalze der Fettsäuren behandeln wir mit Salzsäure und bestimmen vorerst die Ölsäure, hernach die Palmitin- und Stearinsäure; Cholin wurde mittelst alkoholischer Platinchloridsolution ausgeschieden. Die Formel $(C_5H_{14}NO)_2PtCl_6$ entspricht Pt = 31·61%, gefunden 31·78% Pt.

Alle und auch die qualitativen Versuche ergaben das Resultat, dass wir es mit reinem, aus der Pflanze producirtem Lecithin zu thun haben. Nun konnten die physiologischen Versuche an die Reihe kommen.

Die Vegetationsversuche wurden mit Haferkeimlingen von Avena sativa vorgenommen, welche bisher auf Kosten der

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Reservestoffe ihrer Samen in destillirtem Wasser vegetirend, mit den ersten entrollten Blättern in eine Nährstofflösung — und zwar in jedem Vegetationscylinder[1] eine Pflanze — eingesetzt wurden.

Die Nährstofflösungen hatten folgende Zusammensetzung: In einem Liter destillirten Wassers werden gelöst:

Phosphorfreie Lösung.

KNO_3	0·25 *g*	KCl	0·25 *g*
$CaSO_4$	0·25 *g*	Na Gl	0·1 *g*
$MgSO_4$	0·25 *g*	Eisensilikat	0·25 *g* (beigemischt)
$Ca(NO_3)_2$	0·25 *g*	$FeSO_4$	0·03 *g*

Mit dieser Lösung wurden 8 Cylinder angefüllt. Zu nachstehenden 6 Cylindern kam eine Lösung von $CaH_4(PO)_2 . H_2O$ hinzu, mit folgender Zusammensetzung der Nährsubstanz:

KNO_3	0·5 *g*
$CaSO_4$	0·25 *g*
$MgSO_4$	0·25 *g*
$CaH_4(PO_4)_2 . H_2O$	0·05 *g*
NaCl	0·25 *g*
Eisensilikat	0·25 *g*

Weitere 6 Cylinder wurden mit einer Nährstofflösung ohne Phosphorsäure angefüllt, dafür kam jedoch Lecithin mit 4·23% Phosphorgehalt hinzu, welcher umgerechnet $= P_2O_5$ 9·69% ergibt.

Auf 1000 *cm*³ Nährstofflösung entfallen somit:

in der Gruppe I = 0·05 *g* $CaH_4(PO_4)_2 . H_2O$ = 0·028 *g* P_2O_5
» » » II = 0·288 *g* Lecithin = 0·028 *g* P_2O_5.

Das Lecithin bewirkte eine Emulsion in der Nährstofflösung, und die Vegetationscylinder mussten öfters mit einer dünnen Glasstange durchgerührt werden. Sehr schwierig gestaltete sich der Versuch dadurch, dass — was übrigens vorauszusehen war — sich das Lecithin nach einiger Zeit zersetzte

[1] Von einem Inhalt 2000 *cm*³.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

und sich Glycerinphosphorsäure neben Cholin und Fettsäuren bildete. (Die Vegetationscylinder wurden immer wieder mit frischer Nährstofflösung gefüllt, sowohl mit Lecithin, als auch mit $CaH_4(PO_4)_2 . H_2O$.[1])

Die wichtigste Aufgabe bestand darin, die Vegetation stets bei denselben Verhältnissen der Nährstoffeinwirkung zu erhalten. Die Pflanzen wuchsen im staubfreien Vegetationsraume und unter dem Einflusse der Morgensonne.

Die Versuchsresultate nach der Fruchtreife waren wie folgt (siehe Tabelle I).

Aus den angeführten Ziffern ersehen wir, dass die Haferculturen am üppigsten bei Vorhandensein von P_2O_5 in Form von $CaH_4(PO_4)_2\ H_2O$ vegetieren. Die Culturen aus lecithinhältiger Nährstofflösung boten wohl kein vollkommenes Medium für die Bildung von lebender Pflanzenmaterie, nichtsdestoweniger erscheint aber documentirt, dass das Lecithin assimilirt und in die vitalen Processe zur Bildung lebender Moleküle von Phosphorverbindungen eingeführt worden ist.

Gewicht der aus einem Samenkorn stammenden Pflanze (Durchschnittsertrag).

Nährstofflösung mit $CaH_4(PO_4)_2 . H_2O$:

Gewicht von Wurzeln	3·95 *g*
» » Halm, Blatt und Spreu	18·47 *g*
» » geernteten Körnern	7·45 *g*

Nährstofflösung mit Lecithin:

Gewicht von Wurzeln	2·15 *g*
» » Halm, Blatt und Spreu	14·10 *g*
» » geernteten Körnern	4·27 *g*

Nährstofflösung frei von P_2O_5:

Gewicht von Wurzeln	0·68 *g*
» » Halm, Blatt und Spreu	1·41 *g*

---

[1] Bei Erneuerung der Nährstofflösungen wurden die Wurzeln sorgfältig abgespült und einige Tage in destillirtem Wasser gezüchtet.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Tabelle I.

Nährstofflösung	Wurzel			Halm, Länge in Centimeter	Blatt		Halm, Blatt und Spreu, Gewicht in Gramm	Anzahl der Körner	Gewicht der geernteten Körner
	mittlere		Gewicht in Gramm		mittlere				
	Länge in Centimeter	Dicke			Länge in Centimeter	Breite in Millimeter			
Mit $CaH_4(PO_4)_2.H_2O$:									
Nummer I	39	1·9	3·8	106	41·5	8·00	18·64	378	7·51
» II	36	2·3	3·6	110	40·8	7·00	17·52	422	8·12
» III	35	1·98	4·1	95	39·7	8·00	19·81	388	7·02
» IV	42	1·9	4·3	93	45·3	8·00	17 91	390	7·14
Mit Lecithin:									
Nummer I	32	1·5	2·5	101	35·5	8·00	15·62	250	4·52
» II	30	1·7	2 2	96	36·0	7·00	13·01	191	3·96
» III	31	2·0	1·9	90	34·2	8·00	14·24	185	3 83
» IV	32	1·3	2·08	88	33·6	8·00	13·53	260	4·63
P_2O_5-freie Lösung:									
Nummer I	12	0·4	0·5	31	20·6	6·00	0·88	—	—
» II	10	0·6	0·88	26	18·8	5·00	2·21	—	—
» III	8	0·3	0·75	20	25·4	5·00	0·92	—	—
» IV	8·5	0·3	0·61	23	25·0	6·00	1·63	—	—

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Zusammensetzung der Trockensubstanz (Gesammt-Phosphorsäuregehalt[1]).

Normalpflanzen:

Wurzel ....0·33% P_2O_5
Halm, Blatt, Spreu ....0·26 » »
Körner ....0·66 » »

Lecithinpflanzen:

Wurzel ....0·26% P_2O_5
Halm, Blatt, Spreu ....0·21 » »
Körner ....0·63 » »

Phosphorsäurefrei gezogener Hafer:

Wurzel, Halm, Blatt, Spreu ....0·18% P_2O_5

Demnach ergibt sich aus den obigen Resultaten die Zusammenstellung nachstehender Tabelle (II).

Tabelle II.

Nährstofflösung	Wurzel		Halm, Blatt, Spreu		Körner	
	Durchschnitts-gewicht	Gesammt-P_2O_5-Gehalt	Durchschnitts-gewicht	Gesammt-P_2O_5-Gehalt	Durchschnitts-gewicht	Gesammt-P_2O_5-Gehalt
	in Gramm					
Mit $CaH_4(PO_4)_2 . H_2O$	3·95	0·013	18·47	0·048	7·45	0·049
Mit Lecithin	2·15	0·0055	14·10	0·029	4·27	0·026
P_2O_5-freie Lösung....	0·68	—	1·41	0·0037[2]	—	—

Die Vegetationsdauer betrug im Ganzen 135 Tage bei normaler Zusammensetzung der Nährstoffe, in Lösungen mit

[1] 5—10 *g* Trockensubstanz wurden in einer geräumigen Platinschale mit dreifachem chemisch reinem Na_2CO_3 und $NaNO_3$ gemengt und bis zum Verbrennen der Kohle geglüht. Die Phosphorsäure wurde bestimmt nach der Molybdänmethode.

[2] Wurzel, Halm, Blatt, Spreu zusammen.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Lecithingehalt 146 Tage, bei Pflanzen ohne P_2O_5 entwickelte sich kein Same, und die Production der organischen Substanz war bereits nach 96 Tagen beendet.

Ein Blick auf die erhaltenen Ziffern belehrt uns über eine interessante Stufenleiter des assimilirten Quantums von P_2O_5 der aus einem Samenkorn aufgegangenen Pflanze.

Lösung mit $CaH_4(PO_4)_2 . H_2O$ .... 0·110 *g*
» » Lecithin.................... 0·062 *g*
» ohne P_2O_5 .... 0·0037 *g*.

Das Gewicht von 100 Versuchssamen, welche stets im annähernden Gewichte eigens ausgewählt wurden, betrug 3·25 *g*. Die Samen bargen in der Trockensubstanz 0·689 % Gesammt-P_2O_5. In 100 Hafersamen waren daher 0·0224 *g*, in 1 Samen 0·000224 *g* enthalten. Aus diesen Ziffern ist zu ersehen, dass trotz aller Vorsicht das Ernährungsmedium doch Spuren von P_2O_5 aufwies, denen unsere Reactionen nicht beikommen. Dieses geringfügige Quantum wurde auch während der Vegetationsdauer durch die Pflanze assimilirt. Wie oben angeführt, waren im Durchschnittsquantum producirter Pflanzensubstanz 0·0037 *g* P_2O_5 enthalten; bringen wir 0·0002 *g* in Abzug, so erübrigen noch 0·0035 *g*! Interessant war der Anblick des Exterieurs der einzelnen Culturen. Die normalen Pflanzen hatten sattgrüne Blätter, deren Palissadenzellen unter dem Mikroskop eine grosse Menge von Chlorophyllkörner aufwiesen, während jene Pflanzen, welche in Vegetationscylindern aufwuchsen, wo Monocalciumphosphat durch Lecithin vertreten war, sich jenes intensiven Grüns nicht erfreuten.

Einen kümmerlichen Eindruck machten die Pflänzchen ohne Phosphorsäure in der Nährstofflösung. Zu sehen war ein verkümmerter Wuchs, ein vorzeitiges Absterben der Blätter und die Auswanderung von P_2O_5 in neue Organe. Die mikroskopische Untersuchung ergab, dass das Palissadengewebe ungemein arm an Chlorophyllkörnern war. Es sei hier erwähnt, dass Stickstoff und Phosphorsäure eine wichtige Rolle bei der Bildung von Chlorophyllkörnern spielen, worüber noch an anderer Stelle eingehender referirt werden wird. Ferner ist auch

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

die Ernährung des Zellkernes,[1] sowie das Wachsthum und die Theilung der Zellen von dem Vorhandensein der Phosphorsäure bedingt.

Besonders trat der gelbe Habitus der Blätter von Pflanzen aus P_2O_5-freiem Medium hervor. Aus dieser meiner Beobachtung lässt sich der Schluss ziehen, dass nicht die Bedingungen zur Bildung von Chlorophyll, sondern jene zur Bildung von Xantophyll vorhanden waren.

Interessante Resultate bot die Bestimmung des Lecithins.[2] Die benützten Hafersamen bargen in der Trockensubstanz 0·81 % Lecithin. Die ausgewachsenen Pflanzen ergaben zur Zeit der Blüthe im Gesammtgewichte aus einem Samen:

Aus einer Nährstofflösung mit $CaH_4(PO_4)_2 . H_2O$:

Gewicht der Trockensubstanz (Wurzel, Halm, Spreu, Blätter etc.) ....24·83 *g*
Lecithin-Gehalt in der Trockensubstanz .. 0·73 %
In der ganzen Pflanze .... **0·181 *g* Lecithin.**

---

[1] Auf dem Gebiete der Chemie des Zellkernes sind namentlich die classischen Arbeiten von Zacharias zu nennen.

[2] Wir verfahren bei Ausführung der quantitativen Bestimmung des Lecithins nach der modificirten Methode E. Schulze's und S. Frankfurt's (Landw. Versuchsstationen, 1893, S. 307). 8—12 *g* fein zerriebene Pflanzensubstanz (bei 60° C. getrocknet) wurde in eine Papierhülse gebracht und in einem Soxhlet'schen Apparat mit wasserfreiem Äther extrahirt, sodann im Erlenmeyr'schen Kolben mit absolutem Alkohol fünf- bis sechsmal beim Sieden ausgezogen (immer eine Stunde lang). Nach B. v. Bittó (Zeitschrift für physiologische Chemie, 1894) müsse man die Pflanzensubstanz 30 mal mit Äthylalkohol oder 20 mal mit Methylalkohol auskochen. Meine Untersuchungen documentiren, dass bei fünf- bis sechsmaliger Extraction mit Alkohol (Äthylalkohol) sich das Lecithin vollständig gewinnen liess.

Die bei der nachträglichen Extraction mit Alkohol erhaltenen Flüssigkeiten lieferten unbestimmbare Spuren von Phosphorsäure. Die Angaben von B. v. Bittó sind daher unbegründet.

Drechsel warnt, den ganzen Phosphorgehalt des Alkoholätherextractes auf Lecithin zu beziehen, bei Untersuchungen thierischer Flüssigkeiten, Geweben, Concretionen etc. Im thierischen Organismus kommen ausser Lecithin noch andere in Äther und Alkohol lösliche organische Phosphorverbindungen vor; so wurde z. B. das Jecorin von Drechsel im Alkoholextract der Leber gefunden, und zwar aus der ätherischen Lösung desselben durch absoluten

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Aus einer Nährstofflösung mit Lecithin:

Gewicht der Trockensubstanz ....18·55 *g*
Lecithin-Gehalt in der Trockensubstanz .. 0·61 %
In der ganzen Pflanze .... **0·113** *g* **Lecithin.**

Aus einer Nährstofflösung ohne Phosphorsäure:[1]

Gewicht der Trockensubstanz...........2·38 *g*
Lecithin-Gehalt in der Trockensubstanz ..0·35 %
In der ganzen Pflanze ....**0·0071** *g* **Lecithin.**

Schreiten wir nun zur Bestimmung des sich gebildeten Lecithins nach beendeter Vegetation.

Aus einer Nährstofflösung mit $CaH_4(PO_4)_2 . H_2O$. Durchschnittsertrag aus einem Samen in einem Vegetationscylinder:

Körnergewicht in der Trockensubstanz **7·45** *g*
Lecithin-Gehalt im Samen .... **0·87** %
Gewicht des in den Samen vorhandenen
Lecithins .... **0·064** *g*
Gewicht von Wurzel, Halm, Spreu etc. ...22·42 *g*
Lecithin-Gehalt .... 0·25 %
Wurzel, Spreu, Halm etc. enthalten somit . **0·056** *g* Lecithin.

Im Ganzen fand man daher nach beendeter Vegetation in der Pflanze aus einem Samen **0·12** *g* **Lecithin** und **0·11** *g* Gesammt-P_2O_5.

Aus einer Nährstofflösung mit Lecithin:

Durchschnittsertrag aus einem Samen in einem Vegetationscylinder.
Körnergewicht in der Trockensubstanz .... 4·27 *g*
Lecithin-Gehalt im Samen .... 0·85%

Alkohol gefällt. In der Nebennierensubstanz wurde von Manasse ein zuckerabspaltender, phosphorhaltiger Körper nachgewiesen. In den Pflanzen sind solche organische Phosphorverbindungen bis jetzt noch nicht nachgewiesen worden.

[1] Zur Vornahme des Versuches verwendete man die Substanz aus vier Vegetationscylindern.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

Gewicht von Wurzel, Halm, Spreu etc. . . . . 16·25 *g*
Lecithin-Gehalt . . . . 0·32 %
Gewicht des Lecithins in dem Samen . . . . 0·0362 *g*
Gewicht des Lecithin in Wurzel, Spreu, Halm etc. . . 0·052 *g*

Im Ganzen fand man daher nach beendeter Vegetation aus einem Samen **0·0882** *g* **Lecithin** und **0·062** *g* **Gesammt-P_2O_5.**

Berechnen wir nun das Phosphorsäurequantum, welches im Lecithin enthalten ist, so finden wir bei Pflanzen aus normalem Nährstoffmedium **10%** der Gesammt-Phosphorsäure in Form von Lecithin. Bei Pflanzen, wo das Monocalciumphosphat durch Lecithin ersetzt war, fanden wir, dass von der Gesammt-Phosphorsäure nach beendeter Vegetation **12%** in Form von Lecithin enthalten waren.

Besonders erwähnt sei noch, was übrigens auch aus den Ziffern hervorgeht, dass in den einzelnen Pflanzenbestandtheilen mit dem Schwinden des Chlorophylls auch das Lecithin abnimmt.

Der Versuch ergibt klar eine Assimilation des Lecithins und seine Verwerthung bei den vitalen Processen im Pflanzenorganimus. Die Bildung von lebendiger Zellsubstanz erfolgt unter Mitwirkung von Lecithin. Der erste Beweis für die Assimilation von Phosphorsäure in organischer Form durch Phanerogamen.

Figurenerklärung.

Fig. I, II und III sind Hafer-Wasserculturen mit Monocalciumphosphat, die anderen drei Figuren stellen Hafer-Wasserculturen mit Lecithin dar.

Digitised by the Harvard University, Download from The BHL http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum.at

